

Analyse génétique des truites du Mamoul, de la Cère et affluents (département du Lot)

Projet LOT3
Rapport de mai 2013



Le Mamoul © FD46

Analyses statistiques, interprétation, rédaction: **Patrick Berrebi**
Analyses moléculaires: **Zhaojun Shao**

* Institut des Sciences de l'Evolution, UMR5554 UM2/CNRS/IRD, Université Montpellier 2, CC065,
place E. Bataillon, 34095 Montpellier cedex, tel: 04 67 14 37 32, patrick.berrebi@univ-montp2.fr

1. Introduction

Ce projet d'analyse entre dans le cadre de la connaissance du peuplement en truites du département du Lot. Après les affluents du Célé (Bervezou et Veyre, projet LOT2, campagne de pêche de 2011) et de la Dordogne (la Bave, pêchée en 2010, projet LOT1 et le rapport morphologique associé: Fridrick, 2011), ce sont des affluents essentiellement de la Cère (Mamoul excepté) qui constituent le présent projet LOT3 (campagne de pêche 2012).

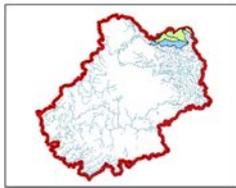
2. Echantillonnage

Les 6 stations analysées dans le présent rapport sont détaillées dans le Tableau 1 et leur localisation dans la Figure 1. Les 150 échantillons de nageoires sont parvenus au laboratoire de Montpellier le 7 janvier 2013. Laurent Fridrick est le correspondant de la Fédération de Pêche 46 pour ce projet LOT3.

En plus des truites de 2012, des échantillons de référence ont été ajoutés: des localités voisines déjà analysées (Bave, Cère amont) ainsi que des échantillons de truites domestiques commerciales françaises provenant d'une pisciculture locale (appartenant à la fédération de pêche du Lot) et d'un établissement national de l'Ain (Tableau 1).

Bassin versant	Cours d'eau	Secteur	Code station	N° assignation	date de pêche	N	projet	individus ISEM	localités ISEM	X (L93)	Y (L93)
CERE	Cère	aval Brugales	CERE1	1	27/07/2012	25	LOT3	T24511-T24535	L008	614232	6427741
	Ruisseau d'Orgues	amont confl. Roquecourbine	ORGU1	2	17/08/2012	25	LOT3	T24536-T24560	L009	613962	6431675
	Nègreval	Amont Moulicou	NEGR1	3	23/08/2012	25	LOT3	T24561-T24585	L012	614072	6426473
	Escaumels	Pont de Rhodes	ESCA1	4	13/09/2012	25	LOT3	T24586-T24610	L022	627197	6426528
MAMOUL	Mamoul	Aval moulin d'Esclat	MAMO1	5	20/09/2012	25	LOT3	T24611-T24635	L034	613341	6423985
		Sceaux	MAMO2	6	25/09/2012	25	LOT3	T24636-T24660	L045	621925	6422882
BAVE	Bave	Amont (Cheval Blanc)	-	7	26/07/2010	25	LOT1	T19316-T19340	L371		
CERE	Cère	Thiézac	-	8	2010	25	CANT1	T18654-T18678	L342		
-	-	Pisciculture fédérale 46	-	9	16/03/2010	25	LOT1	T19346-T19370	L372		
-	-	Pisciculture Ain	-	10	2008	25	GENSALM2	T17016-T17040	L269		

Tableau 1 : Caractéristiques des truites analysées dans ce rapport (lignes jaunes) et des truites de référence servant aux comparaisons dont les truites domestiques atlantiques (en gris).



Site et stations de l'étude

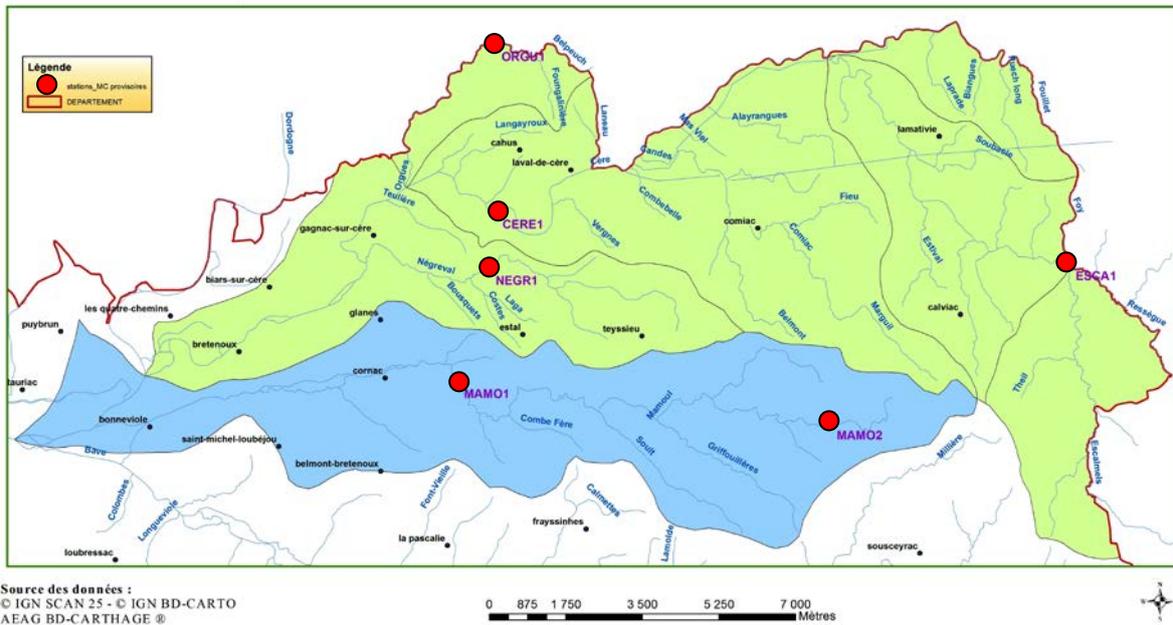


Figure 1 : Positionnement des échantillons analysés (voir le Tableau 1 pour les caractéristiques des stations et des échantillons).

3. Méthode moléculaire

Les morceaux de nageoire de truites prélevés au bord des rivières et mis immédiatement dans l'alcool peuvent être conservés ainsi plus de 10 années. L'ADN d'un minuscule morceau (1 mm x 2 mm) est **extraît** dans une mixture de protéinase K (détruit les protéines et libère l'ADN) et de Chelex (chélateur des enzymes hydrolysant l'ADN et de certains inhibiteurs) pendant au moins deux heures. Après centrifugation, le surnageant dilué sert d'extrait d'ADN.

Les extraits d'ADN sont rajoutés à un mélange réactionnel (le mix) capable d'**amplifier**, dans un cycle thermique complexe, le petit morceau d'ADN cible: le marqueur microsatellite (synthèse artificielle de l'ADN cible ou PCR). Le milieu réactionnel se charge alors d'une très grande quantité de fragments d'ADN artificiel cible.

Les variants de longueur des microsatellites (les allèles) sont caractéristiques de chaque truite et sont la base des calculs futurs. Pour les mesurer, ils sont mis à migrer sous un champ électrique dans un gel d'acrylamide (la **migration**) puis scannés. Un analyseur d'image permet de mesurer automatiquement la longueur des fragments d'ADN, ces mesures sont contrôlées par un technicien expérimenté.

La matrice de génotypes est constituée à partir de ces mesures. Elle constitue la base de toutes les analyses statistiques.

4. Méthode statistiques

Les données moléculaires (génotypes) obtenues, codées, permettent d'établir une matrice. Additionnée de la matrice des échantillons de référence (pour les comparaisons) d'échantillons déjà connues (voir Tableau 1), la matrice finale permet d'effectuer les traitements statistiques suivants, constitués de trois étapes principales.

L'**analyse multidimensionnelle** (ici un Analyse Factorielle des Correspondances ou AFC effectuée grâce au logiciel GENETIX) produit un diagramme qualitatif où chaque truite est positionnée en fonction de son génotype décrypté pour chaque marqueur microsatellite. Plus deux points sont rapprochés, plus les truites qu'ils représentent se ressemblent génétiquement. Plus ils sont éloignés et plus les truites sont différentes. Cela permet de détecter des "nuages" de points correspondant à des lignées génétiques permettant de comprendre de quel type sont les truites analysées.

L'**analyse d'assignation** (ici une méthode bayésienne appliquée avec le logiciel STRUCTURE) permet d'assigner chaque truite à un sous-groupe. Ces sous groupes ne tiennent pas compte de l'origine des truites mais seulement de leur génotype. Le point le plus délicat est de savoir combien de sous groupes (k) sont contenus dans les truites analysées, aussi des essais avec k allant de 2 à 6 ou même 10 sont nécessaires. Il faut que la partition ait un sens biologique. Les truites peuvent être assignées à plusieurs sous groupes (généralement 2) si elles sont hybridées. Cette méthode, plus quantitative, permet de chiffrer avec précision la composition génétique d'un échantillon (par exemple les pourcentages de truites sauvages et domestiques dans un échantillon) ou d'une truite hybride.

Une fois les lignées déterminées par les deux précédentes méthodes, les **paramètres populationnels** classiques de la génétique des populations sont calculés pour chaque lignée ou chaque station: la diversité génétique (H_o = hétérozygotie observée et H_{nb} = hétérozygotie théorique non biaisée; A = nombre moyen d'allèles par marqueur), la panmixie ou probabilité égale de chaque membre d'une population de truite de se reproduire avec tout autre membre de sexe opposé (F_{is}), la différenciation génétique entre échantillons (F_{st}). Les informations biologiques tirées de ces paramètres populationnels sont interprétées dans la discussion.

5. Résultats

5.1 - Analyse multidimensionnelle

L'analyse multidimensionnelle (Figure 2) nous donne un premier aperçu de la structure des populations. Le long de l'axe 1 (horizontal) se distinguent les truites domestiques (triangles à gauche) et sauvages (ronds à droite). Cela permet déjà de remarquer la forte présence domestique dans l'échantillon Mamoul 2, de loin le plus hybridé. On remarque également une forte originalité des truites de l'Escaumels qui s'étalent dans la zone négative (vers le bas) de l'axe 2 (vertical).

Ce type d'analyse de débroussaillage permettrait d'aller plus loin mais sans quantifier les observations. L'analyse d'assignation qui suit le permet.

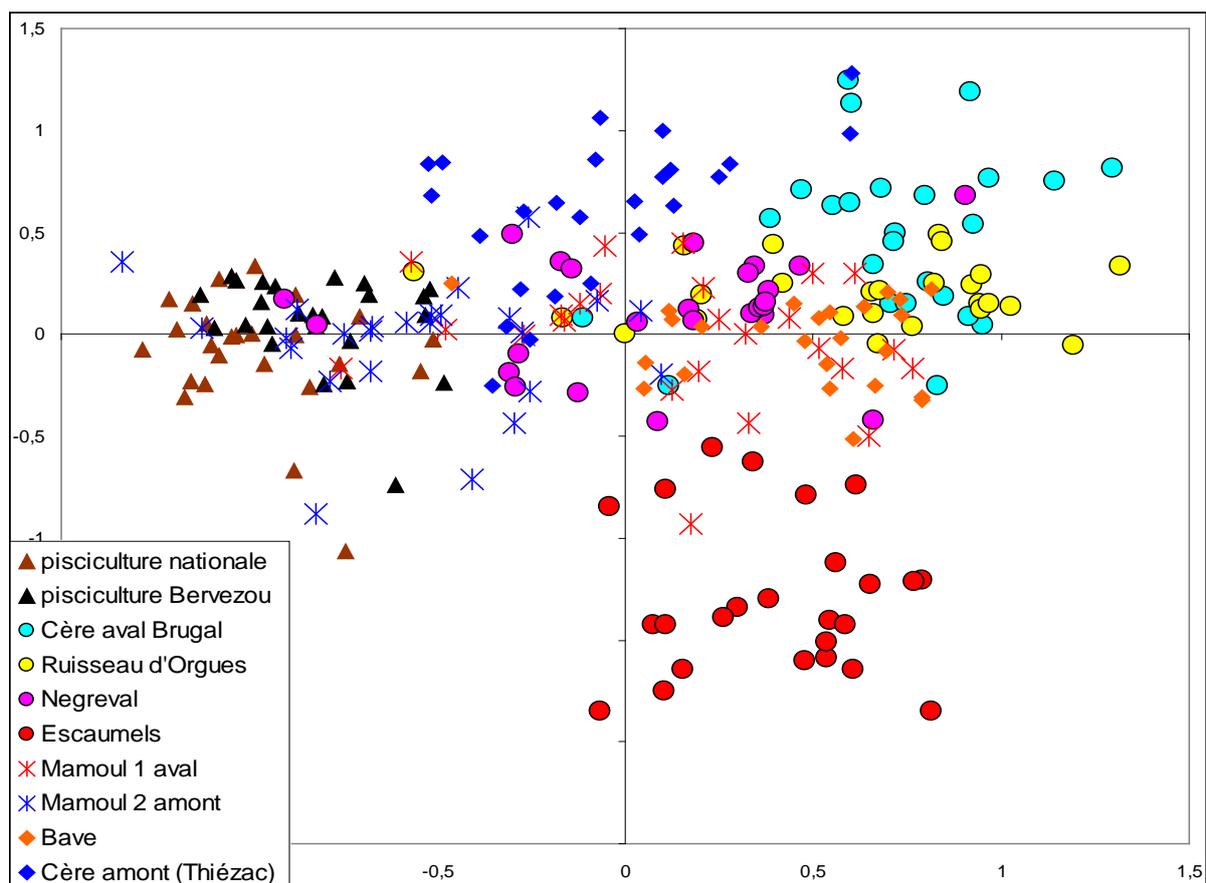


Figure 2 : Analyse multidimensionnelle des échantillons de 2012 et des échantillons de référence. Les truites de la Bave et celles de la pisciculture fédérale 46 sont fortement décalées en profondeur (coordonnées positives de l'axe 3, non visible sur ce plan).

5.2 - Analyse d'assignation

En dehors du Mamoul, toutes les rivières et piscicultures analysées présentent un type génétique distinct (Figure 3), ce qui est attendu en cas d'isolement. Le Tableau 2 traduit l'histogramme en pourcentages.

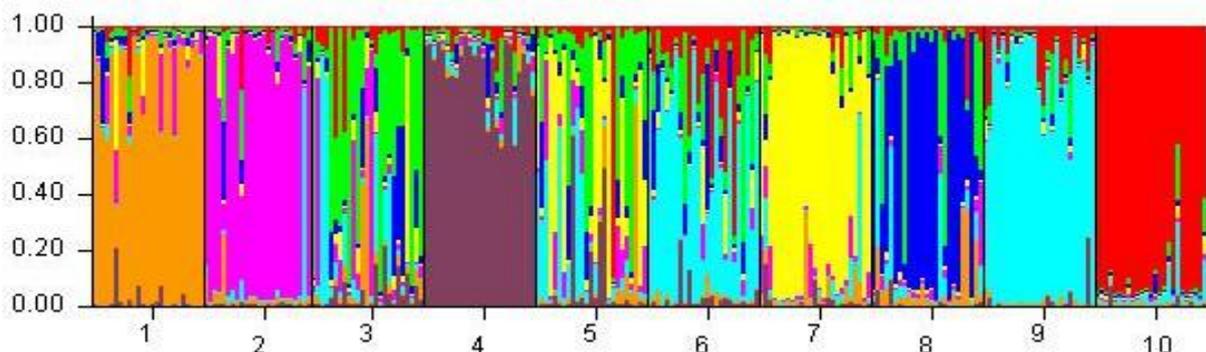


Figure 3 : L'analyse d'assignation permet de confirmer et de chiffrer (voir Tableau 2) les observations faites par analyse multidimensionnelle. Elle permet d'être plus précis, par exemple en attribuant à la pisciculture de Bervezou la part domestique déjà observée dans la population Mamoul 2 amont.

	Cère B	Org.	Negr.	Esca.	Bave	Cère T	P46	P
CERE1	81	6	2	2	3	3	1	2
ORGU1	3	79	4	1	3	3	5	2
NEGR1	6	12	42	5	7	10	13	6
ESCA1	2	2	3	85	1	2	3	3
MAMO1	5	7	23	8	29	7	15	6
MAMO2	2	2	13	3	4	8	51	17
Bave	4	5	4	2	76	2	5	3
Cère Thiézac	6	3	18	1	1	59	9	3
P46	1	1	4	2	2	2	80	9
P	1	1	2	1	1	1	4	89

Tableau 2 : Composition de chaque échantillon en pourcentage des 8 lignées détectées par STRUCTURE. Pour aider à la lecture de ce tableau de chiffres, les pourcentages égaux ou inférieurs à 6% ont été mis en gris (forte probabilité que ce soit le bruit de fond de la méthode) et les pourcentages égaux ou supérieurs à 50% sont en gras.

5.3. - Paramètres populationnels

	Hnb	Ho	A	Fis	signif.
CERE1	0,65	0,45	6,50	0,30	***
ORGU1	0,66	0,59	6,83	0,10	**
NEGR1	0,75	0,67	10,00	0,10	***
ESCA1	0,66	0,60	7,17	0,09	**
MAMO1	0,76	0,60	9,33	0,21	***
MAMO2	0,80	0,74	10,17	0,07	**
Bave	0,67	0,60	6,17	0,10	**
Cère Thiézac	0,79	0,80	11,00	-0,01	ns
P46	0,78	0,77	9,50	0,01	ns
P	0,77	0,79	6,83	-0,02	ns

Tableau 3 : Calcul des paramètres populationnels de diversité génétique (entêtes vertes) et de panmixie (entête orange). ns=non significatif; **=significatif à 1/100 et *** à 1/1000.

CERE1	ORGU1	NEGR1	ESCA1	MAMO1	MAMO2	Bave	Cère Thiézac	P46	P	
0	0,11	0,10	0,22	0,12	0,15	0,18	0,10	0,21	0,21	CERE1
	0	0,08	0,21	0,08	0,14	0,15	0,11	0,21	0,20	ORGU1
		0	0,16	0,03	0,04	0,12	0,07	0,10	0,12	NEGR1
			0	0,16	0,17	0,21	0,20	0,22	0,22	ESCA1
				0	0,05	0,05	0,08	0,11	0,13	MAMO1
					0	0,13	0,05	0,03	0,05	MAMO2
						0	0,15	0,18	0,22	Bave
							0	0,12	0,10	Cère Thiézac
								0	0,07	P46
									0	P

Tableau 4 : Estimation des Fst (estimateurs de Weir et Cockerham 1984). Ils sont tous significatifs.

Les paramètres populationnels présentés aux Tableaux 3 et 4 sont expliqués dans la partie "4. Méthodes statistiques".

Que nous disent-ils:

- les paramètres de diversité génétique (colonnes vertes du Tableau 3) nous montrent que les populations du Mamoul et du Nègreval sont autant, voire plus, polymorphes que les populations domestiques, pourtant considérées comme très polymorphes par leur origine nord européenne diverse. Si on compare ces valeurs avec les assignations du Tableau 2, on peut conclure que cette diversité élevée est d'origine anthropique, due aux introductions;

- l'écart entre H_{nb} (c'est l'hétérozygotie attendue en situation de panmixie) et H_o (observée) est la base du calcul des F_{is} (colonne oranges du Tableau 3). Cet écart, et donc le F_{is} , est toujours significatif (sauf dans la Cère à Thiézac purement sauvage et dans les piscicultures purement domestiques) mais est très hautement significatif (***) pour la Cère à l'aval de Brugales, Nègreval et Mamoul 1. Ces F_{is} significatifs sont difficiles à interpréter: ils peuvent être le signe d'introductions récentes, mais aussi de phénomènes naturels où les jeunes stades vivent dans des zones différentes des adultes.

- les F_{st} (Tableau 4) sont tous significatif, donnant une mesure de la différenciation entre échantillons. Cela veut dire qu'il n'y a pas d'échange régulier et continu de truites entre ces populations. Parmi les échantillons de 2012, l'écart le plus important est entre Escaumels et les autres rivières, ce qui coïncide avec l'analyse multidimensionnelle en Figure 2 où cette population semble qualitativement "à part".

6. Interprétation et discussion

L'analyse de cette petite partie du réseau hydrographique du département du Lot nous montre que les populations de truites sédentaires, pour peu qu'elles soient isolées à la remontée par des obstacles naturels (ce qui est le cas pour l'Escaumels), forment des entités génétiques différenciées. En dehors du Mamoul, toutes les rivières échantillonnées ont montré une dominance d'une lignée locale naturelle (types Cère B, Orgues, Nègreval et Escaumels), puis plus loin les types Bave ou Cère amont.

Dans la structure génétique des populations locales, **les truites d'Escaumels font office d'exception, avec un F_{st} le plus élevé vis à vis des autres populations sauvages, et une composition quasiment pure** puisqu'en dehors des 85% du type Escaumels, aucun des autres types n'y dépasse 3%, en dessous du bruit de fond. **La Cère en aval de Brugales et le ruisseau d'Orgues abritent aussi des lignées pures.**

Sur ce patchwork naturel, l'activité humaine a introduit des truites étrangères ou détruit des truites naturelles. C'est cette activité qu'il est possible de déduire des analyses.

La modification la plus facile à détecter est l'introduction de truites domestiques. Ici nous avons une **introgression** (introduction provoquant un croisement avec les truites naturelles) limitée de la souche domestique nationale (essentiellement dans le Mamoul amont: 17%) et surtout de la souche de la pisciculture fédérale 46 présente à **51% dans le Mamoul amont (ce qui fait 68% de gènes domestiques) et à environ 15% dans deux autres populations (Mamoul aval et Nègreval).**

Du point de vue des pratiques d'alevinage, certaines stations n'ont reçu aucun alevin domestique depuis de nombreuses années (Escaumels, Cère aval Brugales), ce qui n'épargne pas forcément cette dernière de dévalaisons si des alevinages ont été pratiqués en amont; d'autres sont annuellement alevinés (Nègreval, Mamoul (amont et aval) et ruisseau d'Orgues).

Ces données sur les alevinages expliquent en partie les résultats, à l'exception du ruisseau d'Orgues, aleviné et indemne d'introgression.

Les autres modifications dues à l'anthropisation sont plus difficiles à décrire et constituent souvent des hypothèses à confirmer. Chaque fois qu'une composition génétique d'une population s'écarte de la logique géographique, une intervention humaine peut être supposée.

Par exemple, pourquoi les échantillons Nègreval et Mamoul (mais aussi Cère à Thiézac) comprennent ils 2 à 5 lignées différentes (en plus des lignées domestiques P et P46 bien compréhensibles) et une hétérozygotie non biaisée (Hnb) au delà de 0,7? Il pourrait s'agir de problèmes statistiques ou d'erreurs de génotypage, mais alors pourquoi les échantillons Cère à l'aval de Brugales, Orgues, Escaumels et Bave amont ne présentent-ils pas le même phénomène (une seule lignée et $Hnb < 0,7$)?

Autre cas: pourquoi le polymorphisme populationnel (estimé à partir des paramètres Hnb ou A, Tableau 3) augmente-t-il vers l'amont de la Cère alors que, naturellement, il devrait baisser.

Ces observations nous montrent que tout ne peut pas être compris à partir d'une analyse des microsatellites. Repeuplements, introductions et translocations par l'homme sont les hypothèses les plus probables pour expliquer la plupart des anomalies.

7. Références bibliographiques

- Berrebi, P., & Cherbonnel, C. (2011). *Etude génétique des populations de truites communes (Salmo trutta L.) du bassin versant de la Bave (sous-bassin de la Dordogne, département du Lot) - Rapport de novembre 2011 (LOT1)*.
- Berrebi, P., Fridrick, L., & Cherbonnel, C. (2012). *Analyse génétique des truites des bassins versants du Bervezou et du Veyre (département du Lot, pêches de mai-août 2011) - Rapport de juin 2012. (LOT2)*
- Fridrick, L. (2011). *Etude génétique et analyse des effets de l'environnement et de la génétique sur la morphologie des truites communes (Salmo trutta L.) du bassin versant de la Bave.*

Fait à Montpellier le 27 mai 2013

8. Annexes

Annexe 1: Pourcentage d'appartenance de chaque échantillon (première partie) et de chaque truite (seconde partie) aux 8 lignées génétiques détectées (moyenne de 3 runs):

Cère B = type Cère aval Brugales

Org. = type Orgues

Negr. = type Nègreval

Esca. = type Escaumels

Bave = Bave amont = BAVE2

Cère T = Cère à Thiézac

P46 = type pisciculture fédérale 46

P = type commercial atlantique national

	Cère B	Org.	Negr.	Esca.	Bave	Cère T	P46	P
CERE1	81	6	2	2	3	3	1	2
ORGU1	3	79	4	1	3	3	5	2
NEGR1	6	12	42	5	7	10	13	6
ESCA1	2	2	3	85	1	2	3	3
MAMO1	5	7	23	8	29	7	15	6
MAMO2	2	2	13	3	4	8	51	17
Bave	4	5	4	2	76	2	5	3
Cère Thiézac	6	3	18	1	1	59	9	3
P46	1	1	4	2	2	2	80	9
P	1	1	2	1	1	1	4	89

CER-01	95	1	1	1	1	1	1	1
CER-02	86	1	1	1	1	9	1	1
CER-03	63	1	1	1	0	33	1	0
CER-04	58	19	7	1	2	4	5	5
CER-05	90	1	3	1	1	1	2	2
CER-06	14	19	3	21	41	1	1	0
CER-07	91	1	2	2	1	3	1	1
CER-08	91	1	2	1	1	3	1	1
CER-09	57	4	11	2	1	5	3	18
CER-10	96	1	1	1	1	1	0	0
CER-11	84	1	2	7	1	1	2	3
CER-12	68	6	2	1	20	1	1	1
CER-13	96	1	1	0	0	1	1	1
CER-14	96	1	1	1	1	1	1	0
CER-15	95	1	1	2	1	1	1	1
CER-16	53	29	5	8	2	2	1	1
CER-17	95	1	1	1	1	1	1	1
CER-18	91	3	1	1	1	2	1	1
CER-19	60	31	4	1	1	2	1	1
CER-20	93	4	1	0	1	1	0	0
CER-21	89	2	2	5	2	1	1	0
CER-22	83	3	3	1	5	3	1	1
CER-23	92	2	1	1	1	2	0	0
CER-24	94	1	1	1	3	1	0	0
CER-25	89	8	1	0	0	1	1	1
ORG-01	12	80	3	1	2	2	1	1

	Cère B	Org.	Negr.	Esca.	Bave	Cère T	P46	P
ORG-02	1	95	1	1	2	1	0	1
ORG-03	4	91	1	1	1	1	1	1
ORG-04	4	69	1	1	22	1	0	0
ORG-05	26	10	29	1	1	30	1	2
ORG-06	1	89	3	1	1	2	2	1
ORG-07	1	84	1	1	7	1	5	0
ORG-08	1	95	1	1	1	1	0	1
ORG-09	1	32	23	2	5	9	7	23
ORG-10	1	95	1	1	1	1	1	1
ORG-11	2	94	1	1	1	1	1	1
ORG-12	2	92	2	1	1	1	1	1
ORG-13	1	94	1	1	1	1	1	1
ORG-14	1	96	1	1	1	1	1	1
ORG-15	1	88	1	1	1	1	1	6
ORG-16	1	96	1	1	1	1	0	0
ORG-17	3	74	11	1	5	4	2	1
ORG-18	1	92	3	2	1	1	1	1
ORG-19	2	95	1	1	1	1	1	1
ORG-21	1	91	2	1	1	2	1	1
ORG-22	1	86	4	1	1	1	1	6
ORG-23	1	88	2	2	5	1	1	1
ORG-24	2	1	11	1	1	2	80	3
ORG-25	2	83	3	1	1	8	1	1
NGR-01	4	2	89	1	2	1	1	1
NGR-02	2	75	5	1	6	1	3	5
NGR-03	1	1	1	1	1	1	89	7
NGR-04	1	1	3	1	1	5	81	8
NGR-05	1	1	71	3	2	19	3	1
NGR-06	2	6	28	8	4	5	7	40
NGR-07	2	13	68	1	11	2	2	1
NGR-08	6	2	22	9	1	2	19	38
NGR-09	2	2	91	1	2	1	1	1
NGR-10	2	52	25	1	7	2	6	4
NGR-11	1	5	77	1	10	2	4	1
NGR-12	39	3	20	5	1	29	2	1
NGR-13	65	18	1	1	12	2	1	1
NGR-14	1	89	2	1	1	1	2	4
NGR-15	5	1	5	16	7	17	40	10
NGR-16	1	1	92	0	1	1	1	2
NGR-17	2	1	52	22	2	2	17	1
NGR-18	3	4	44	5	2	1	38	3
NGR-19	1	4	49	1	6	37	1	2
NGR-20	4	2	37	14	1	40	2	1
NGR-21	1	1	24	4	3	55	3	9
NGR-22	3	1	8	11	72	3	1	1
NGR-23	1	1	91	1	1	3	2	1
NGR-24	5	1	56	7	11	18	2	1
NGR-25	7	4	82	2	1	2	1	1
ESC-01	0	1	1	94	2	1	1	1
ESC-02	1	1	1	94	1	1	1	2
ESC-03	1	1	3	88	1	1	5	1

	Cère B	Org.	Negr.	Esca.	Bave	Cère T	P46	P
ESC-04	1	1	1	95	1	1	1	1
ESC-05	2	2	1	92	2	1	1	1
ESC-06	4	1	4	81	1	1	6	2
ESC-07	1	1	3	82	1	1	3	9
ESC-08	1	1	3	82	1	7	2	3
ESC-09	3	4	1	90	1	1	0	1
ESC-10	1	1	1	97	1	0	0	0
ESC-11	1	2	1	93	1	1	1	1
ESC-12	1	1	2	90	1	1	5	1
ESC-13	1	1	1	93	1	1	1	1
ESC-14	1	2	2	89	1	2	1	4
ESC-15	1	1	5	63	3	19	6	1
ESC-16	1	1	1	89	0	2	1	5
ESC-17	3	1	4	64	1	5	7	16
ESC-18	3	5	28	56	1	2	3	4
ESC-19	1	1	1	95	1	1	1	1
ESC-20	1	2	1	94	1	1	0	1
ESC-21	1	1	12	58	1	2	16	9
ESC-22	13	1	1	83	1	1	1	1
ESC-23	2	2	1	91	1	1	1	1
ESC-24	1	1	3	87	1	2	3	3
ESC-25	2	5	2	75	1	7	7	1
MAM1-01	1	1	2	1	44	1	47	4
MAM1-02	2	1	35	1	3	31	26	1
MAM1-03	1	36	5	1	2	1	52	2
MAM1-04	1	1	2	1	92	1	1	1
MAM1-05	1	20	9	4	63	1	1	1
MAM1-06	1	4	10	1	13	5	64	2
MAM1-07	1	9	6	1	79	2	2	1
MAM1-08	2	1	49	1	1	31	13	2
MAM1-09	2	15	6	62	8	3	2	2
MAM1-10	1	8	8	2	4	1	70	5
MAM1-11	1	15	14	4	4	11	44	7
MAM1-12	1	1	73	1	3	16	3	2
MAM1-13	2	3	61	18	7	3	2	4
MAM1-14	1	1	2	3	79	1	12	1
MAM1-15	1	3	4	31	52	6	1	2
MAM1-16	16	1	13	49	12	2	2	6
MAM1-17	1	1	1	1	92	2	1	1
MAM1-18	1	1	1	1	1	1	4	91
MAM1-19	5	22	56	1	3	11	1	1
MAM1-20	4	9	15	1	54	8	6	4
MAM1-21	8	9	62	3	7	4	6	1
MAM1-22	4	2	87	1	2	2	2	1
MAM1-23	74	2	12	1	1	3	5	3
MAM1-24	1	2	11	2	77	3	2	2
MAM1-25	2	16	36	1	23	19	2	1
MAM2-01	1	1	5	1	1	2	88	2
MAM2-02	1	2	14	2	2	29	34	16
MAM2-03	5	1	10	1	5	19	59	1
MAM2-04	0	1	2	1	1	3	83	10

